

## 明 細 書

## 神経疾患治療剤

## [技術分野]

本発明は、ペプチドまたはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有する神経疾患治療剤及びグルタミン酸毒性の抑制剤（但し、抗痴呆剤を除く）に関する。

## [背景技術]

生体の生理機能はグルタミン酸で代表される興奮性神経伝達の過度あるいは不適切な刺激によって影響されやすい。そして、興奮性神経伝達の異常は、発作、脳虚血、脊髄損傷、頭部外傷、分娩前後の酸素欠乏、心臓のバイパス手術及び移植後の脳欠損、さらには心停止や低血糖症のような急性神経疾患を含む様々な神経疾患に深く関与していることが知られている。また、アルツハイマー病、ハンチントン舞蹈病、筋萎縮症、脊髄側索硬化症、エイズに伴う痴呆、眼損傷、網膜症、認知障害、パーキンソン病などの慢性神経疾患においても関与が指摘されている。さらに、筋痙攣、けいれん、偏頭痛、尿失禁、ニコチン離脱、精神分裂病などの精神病、てんかん、脳浮腫、慢性疼痛、晩発性運動障害などへの関与も報告されている。

上記のような報告は、例えば、医学のあゆみ、第186巻、第11号、1998年9月12日号、787～790頁掲載の「グルタミン酸神経毒性を制御する内在性保護因子」、日薬理誌、第112号、177～186頁（1998）に掲載の「内在性保護因子によるニューロン死の制御」、及びDN&P 8（5）、261-277, June 1995、に掲載の「Glutamate in CNS Disorders」に見られる。

一方、 $p\text{Glu}-\text{Asn}-\text{Ser}-\text{Pro}-\text{Arg}-\text{Gly}-\text{NH}_2$ の式で表さ

れるペプチド及びその薬理学的に許容される塩は痴呆患者の認知及び記憶障害に対する改善作用を有する抗痴呆剤として有用であることが知られている（特公平8-26069号公報等）。

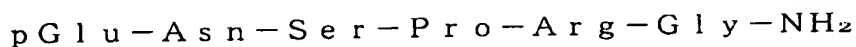
しかしながら、上記のペプチド、ならびにその構造類似のペプチドであるアルギニン・バソプレシン（AVP（1-9））、そしてその脳内活性代謝物である [pGlu<sup>4</sup>, Cyt<sup>5</sup>] AVP（4-9）のグルタミン酸毒性の抑制作用に関する報告はなされていない。

#### [発明の開示]

本発明は、新規な神経疾患治療剤及びグルタミン酸毒性の抑制剤（但し、抗痴呆剤を除く）を提供することを目的とする。

本発明者は、上記の式：pGlu-Asn-Ser-Pro-Arg-Gly-NH<sub>2</sub>で表わされるペプチド、およびそのペプチドの薬理学的に許容される塩の薬理作用に関する研究をさらに進めた結果、このペプチドと塩が優れたグルタミン酸毒性の抑制作用（グルタミン酸誘発性神経細胞障害に対する保護作用）を示すことを見出し、本発明を完成した。

従って、本発明は、下記の式：



で表されるペプチドまたはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有する神経疾患治療剤にある。

本発明はまた、上記の式のペプチドまたはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有するグルタミン酸毒性の抑制剤（但し、抗痴呆剤を除く）にもある。

本発明のペプチドを表わす式において、各略号は、それぞれ特定のアミノ酸を示しており、その略号の意味は、公知の通り、それぞれ下記の意味を示す。それぞれのアミノ酸の光学配置は、特に規定しない限り、L-型である。

pGlu：ピログルタミン酸

Asn：アスパラギン

Ser：セリン

P r o : プロリン

A r g : アルギニン

G l y : グリシン

[発明を実施するための最良の形態]

本発明の神経疾患治療剤またはグルタミン酸毒性の抑制剤の有効成分である、上記ペプチドまたはその薬理学的に許容される塩は、前記の特公平8-26069号公報に記載の方法等により得ることができる。また上記のペプチドの薬理学的に許容される塩としては、例えば酢酸、塩酸、クエン酸又はメタンスルホン酸等との塩が挙げられ、好ましくは酢酸塩である。

上記のペプチドまたはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有する製剤がグルタミン酸毒性の抑制剤として有用であることが下記の薬理実験から明らかになった。

すなわち、グルタミン酸誘発神経細胞障害に対する作用を測定する生体外（イン・ビトロ）の薬理実験（ラット大脳皮質の細胞を使用）において、pGlu-Asn-Ser-Pro-Arg-Gly-NH<sub>2</sub>・酢酸塩はバソプレシン代謝物のAVP（4-9）と比較して1/1000~1/10000の濃度でグルタミン酸誘発細胞死に対する抑制効果を示した（後記実施例1）。従って、pGlu-Asn-Ser-Pro-Arg-Gly-NH<sub>2</sub>・酢酸塩はグルタミン酸受容体アゴニストによる過度の興奮作用あるいは神経障害作用に対する防御効果を有していることが明らかになった。

以上の結果から、式：pGlu-Asn-Ser-Pro-Arg-Gly-NH<sub>2</sub>で表されるペプチドおよびその薬理学的に許容される塩は、グルタミン酸毒性の抑制作用を有し、従って、発作、脳虚血、脊髄損傷、頭部外傷、分娩前後の酸素欠乏、心臓のバイパス手術および移植後の脳欠損、さらには心停止や低血糖症のような急性神経疾患を含む様々な神経疾患の治療剤として期待される。また、筋萎縮症、脊髄側索硬化症、眼損傷、網膜症などの慢性神経疾患の治療剤、さらに、筋痙攣、けいれん、偏頭痛、尿失禁、ニコチン離脱、精神分裂病などの精神病、てんかん、脳浮腫、慢性疼痛、晩発性運動障害に対する治療剤としての効果

も期待される。

本発明の神経疾患治療剤の有効成分である上記のペプチドおよびその薬理学的に許容される塩は一般に非経口的に投与（例：静脈又は皮下注射、脳室内又は脊髓腔内投与、経鼻投与、直腸投与）されるが、場合によっては経口投与されることもある。剤型としては、例えば、注射剤、点鼻剤、座剤、経皮剤、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤等が挙げられる。非経口投与製剤で注射剤の場合、注射用蒸留水、生理食塩水、リンゲル液等を用いて調整することができる。また、マンニトール、ソルビトール等の添加剤を添加して凍結乾燥アンプルとして使用時に溶解することもできる。

本発明の神経疾患治療剤の有効成分である上記のペプチドまたはその薬理学的に許容される塩を成人に投与する場合、一般的には、1日当たり0.1 ng～1 mgである。ただし、非経口投与及び経鼻投与では、0.1 ng～100 µgが好ましく、また、経口投与及び直腸内投与では非経口投与の10～1000倍投与とすることが好ましいが、投与量は、年齢、人種、症状等を考慮して、増減することができる。

次に実施例を挙げ、本発明を更に詳細に説明する。

#### [実施例1]

グルタミン酸誘発神経細胞障害に対する作用（生体外試験）

（方法）

生後0日齢のラット大脳皮質を、1.5 mg/mLのディスパーゼを含むハンクス液でインキュベートし（37℃）、その後、細胞を単離した。神経細胞を、ポリ-L-リジンコートした反応用プレートに約 $4 \times 10^4$ 細胞/cm<sup>2</sup>となるように播き、シトシン-β-D-アラビノフラノシド（20 µM）を添加して4日間培養した。神経細胞の同定はニューロフィラメント抗体を用い、間接蛍光抗体法で行なった。本培養細胞をハンクス液で洗浄後、大気中でインキュベート（30分、37℃）したのち、グルタミン酸を含むハンクス液で10分間インキュベートした。その後、洗浄し、さらに1時間インキュベートした。インキュベート終了15分前にプロビジウムヨード（4.6 µg/mL）を添加した。インキュベ

ート終了後、PBS（食塩添加リン酸緩衝液）で洗浄し、蛍光顕微鏡で観察した。なお、pGlu-Asn-Ser-Pro-Arg-Gly-NH<sub>2</sub>・酢酸塩およびAVP（4-9）はグルタミン酸処置前に4日間培養液に添加した。

（結果）

グルタミン酸（1 mM）によって誘発される細胞死に対し、pGlu-Asn-Ser-Pro-Arg-Gly-NH<sub>2</sub>・酢酸塩（4日間適用）は、0.1及び1 nMにおいて、いずれの場合も保護作用を示した。また、pGlu-Asn-Ser-Pro-Arg-Gly-NH<sub>2</sub>・酢酸塩のグルタミン酸毒性の抑制効果は、V1受容体拮抗薬として公知の[Pmp<sup>1</sup>, Tyr(Me)<sup>2</sup>] AVP（0.1および1 nM）の作用で減弱した。一方、バソプレシン代謝物のAVP（4-9）は、1及び10 μMの濃度でグルタミン酸誘発細胞死を抑制した。

上述の試験結果により、pGlu-Asn-Ser-Pro-Arg-Gly-NH<sub>2</sub>・酢酸塩は、AVP（4-9）と比較して、1/1000～1/10000の濃度でグルタミン酸誘発細胞死に対する抑制効果を示すことが明らかになった。

〔実施例2〕 製剤例：注射剤

注射用蒸留水100 mL中に、pGlu-Asn-Ser-Pro-Arg-Gly-NH<sub>2</sub>・酢酸塩1 mg、塩化ナトリウム750 mg、クエン酸150 mgおよびクエン酸ナトリウム370 mgを溶解した。これを、濾過滅菌後、1 mLのアンプルに充填、熔閉して、本発明に従う神経疾患治療剤用の注射剤を製造した。

〔実施例3〕 製剤例：凍結乾燥製剤（凍結注射剤）

注射用蒸留水100 mL中に、pGlu-Asn-Ser-Pro-Arg-Gly-NH<sub>2</sub>・酢酸塩1 mg、D-マンニトール2.5 gおよび塩化ナトリウム500 mgを溶解した。これを濾過滅菌後、バイアル瓶に1 mLずつ分注した後、凍結乾燥を行なうことにより、本発明に従う神経疾患治療剤用の凍結注射剤を製造した。

〔実施例4〕 毒性試験

pGlu-Asn-Ser-Pro-Arg-Gly-NH<sub>2</sub>・酢酸塩をSD系

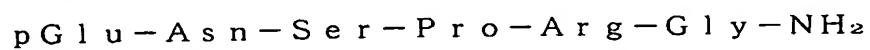
ラットに 1 mg / k g の投与量で皮下投与したが、特記すべき変化は観察されなかった。

〔産業上の利用可能性〕

本発明の式：  $\text{pGlu-Asn-Ser-Pro-Arg-Gly-NH}_2$  で表わされるペプチドおよびそのペプチドの薬理学的に許容される塩は、通常毒性試験でも特段の毒性が現われず、一方、優れた神経疾患治療作用を示す。

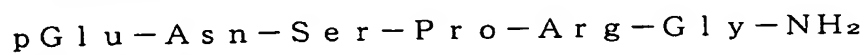
## 請 求 の 範 囲

## 1. 下記の式：



で表されるペプチドまたはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有する神経疾患治療剤。

## 2. 下記の式：



で表されるペプチドまたはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有するグルタミン酸毒性の抑制剤（但し、抗痴呆剤を除く）。